

长江华溪蟹纳精囊与卵巢发育周期的关系*

王 兰

(山西大学生命科学系 太原 030006)

李春源

(中国辐射防护研究院 太原 030006)

摘 要 于 1994 年 6~12 月和 1996 年 3~5 月, 利用组织学和细胞化学方法, 研究了长江华溪蟹 (*Sinopotamon yangtsekiense*) 的纳精囊。结果表明: 纳精囊的形态结构随卵巢的发育而发生相应的变化。纳精囊上皮组织中的顶分泌型腺细胞, 在繁殖期向囊腔中分泌大量的粘液, 为精子的储藏和存活提供了适宜的环境。在卵黄发生的不同阶段, 用细胞化学的方法检测到了纳精囊上皮及腔中内含物的变化。结论: 纳精囊与卵巢发育周期有密切的关系。

关键词 长江华溪蟹、纳精囊、组织学、细胞化学
中图分类号 Q959.223.63

纳精囊是溪蟹 (freshwater crab) 雌性生殖系统的重要组成部分, 在精子储藏、受精及排卵过程中起着十分重要的作用。但是, 有关十足类甲壳动物纳精囊在繁殖过程中不同阶段的形态学、组织学和细胞化学方面的研究尚未见报道。鉴于此, 作者在研究了长江华溪蟹 (*Sinopotamon yangtsekiense*) 精子发生过程中的一系列行为之后 (王兰, 1996, 1997), 又研究了其卵子发生。目的在于揭示纳精囊与卵巢发育周期的关系, 为受精生物学的研究提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

实验用华溪蟹于 1996 年 6 月购自太原市二营盘集贸市场, 饲养在实验室内水族箱中。

1.2 实验方法

在 0.7% 的盐水中活体解剖成熟雌蟹, 用双目解剖镜观察雌性生殖系统的形态结构。从 1996 年 6~12 月到 1997 年 1~5 月, 每月上旬取材 1 次。根据实验的不同要求, 将纳精囊分别固定在 Bouin 氏液、Carnoy 氏液、10% 中性甲醛液及 2.5% 戊二醛溶液中。常规脱水后进行包埋。包埋好的材料, 分别于 1996 年 9~12 月和 1997 年 3~6 月进行具体实验操作。

组织学材料, 常规石蜡切片, 厚 5~7 μm 。

H.E. 染色。细胞化学材料, 常规石蜡切片, 厚 6~8 μm 。染色方法如下: Brachet 反应示核糖核酸 (RNA)。PAS 反应示糖类, 对照用唾液淀粉酶消化, 再用乙酰化阻断, PAS-Alcian 蓝反应示中性和酸性粘多糖。汞溴酚蓝 (HgBPB) 法示蛋白质。Millon 反应示酪氨酸。苏丹黑 B 染色法示脂肪。

1.3 卵黄形成的分期

根据卵母细胞的大小、颜色和卵黄积累的程度, 长江华溪蟹的卵黄形成大致分为 2 期: 卵黄形成 I 期和卵黄形成 II 期。

2 结 果

2.1 形态学

长江华溪蟹 (*S. yangtsekiense*) 雌性生殖系统由卵巢 (ovary)、纳精囊 (spermatheca) 和输卵管 (oviduct) 组成。卵巢 “H” 状, 每一分支通入一狭的、管状的且很短的输卵管中, 输卵管的末端是雌孔。纳精囊位于卵巢和输卵管交界处, 是一种囊状的器官 (图 1)。活体解剖发现, 在卵巢发育或者卵黄形成初期、或者是卵巢产卵后, 纳精囊呈瘪的松弛状态。在卵黄形成中期, 特别是后期, 纳精囊呈充满液体的囊状。

2.2 组织学

纳精囊由囊壁和囊腔两大部分构成。囊壁由外向内依次为: 结缔组织、肌肉层、基膜和囊壁上皮。囊

* 山西省自然科学基金资助项目

本文 1998-04-14 收到, 1998-09-21 修回

表 1 长江华溪蟹在卵黄发生中纳精囊的细胞化学研究结果

Table 1 Cytochemistry of the spermatheca of *S. yangtsekiense* in relation to the vitellogenic cycle

所测物质 (inference)	细胞化学方法 (cytochemical techniques)	卵黄发生 I (stage of vitellogenesis I)				卵黄发生 II (stage of vitellogenesis II)			
		上皮 (epithelium)		囊腔内含物 (luminal contents)		上皮 (epithelium)		囊腔内含物 (luminal contents)	
		细胞质 (cytoplasm)	细胞核 (nucleus)	基质 (plasma)	精子 (sperm)	细胞质 (cytoplasm)	细胞核 (nucleus)	基质 (plasma)	精子 (sperm)
核糖核酸 (RNA)	Brachet 反应 (Brachet)	+	—	—	—	—	—	—	—
糖原 (glycogen)	PAS-反应 (PAS)	—	—	±	+	—	—	+	+
	PAS-唾液消化 (PAS after saliva)	—	—	—	—	—	—	—	—
	PAS-乙酰化 (PAS after acetylation)	—	—	—	—	—	—	—	—
	PAS-Alcian 蓝 (PAS-Alcian blue)	—	—	—	±	—	—	—	±
蛋白质 (basic proteins)	汞溴酚蓝反应 (mercury bromophenol blue)	+	+	+	+	+	+	++	+
酪氨酸 (tyrosine)	米伦反应 (Millon's reagent)	—	—	±	—	—	—	++	—
脂肪 (lipids)	苏丹黑 B (Sudan black B)	±	—	—	—	±	—	+	—

— 没有觉察 (not detected); —, 含量低 (low); ±, 中等 (medium); +, 中强 (fairly strong); ++, 强 (strong)。

壁上皮有二种类型的细胞: 一种称柱状细胞, 排列规则。核 1~2 个, 靠近基部, 呈椭圆形。细胞质嗜碱性较强 (图 2; 7)。另一种称顶分泌型腺细胞 (topocrine gland cells), 细胞形状不规则, 核卵圆形 (图 2; 5~6)。就囊腔而言, 可分为皱缩腔和伸展腔。随着卵巢发育周期的不同, 纳精囊的形态结构也发生相应的变化。卵巢发育早期 (3~5 月), 纳精囊体积小, 囊壁上皮细胞排列紧密, 向内形成一些皱褶, 占据了一部分囊腔。在接近囊腔中部, 囊壁也不完全伸展, 整体呈波浪形。偶尔可见顶分泌型腺细胞的存在, 但分泌物 (secretion) 少 (图 2; 1)。卵巢发育后期, 即繁殖期 (6~8 月), 纳精囊体积明显增大, 顶分泌型腺细胞增多, 囊腔的分泌物也增多。在接近囊腔中部区域, 囊壁细胞全部伸展, 整个囊壁上皮 50% 以上由顶分泌型腺细胞占据, 不断向囊腔排出分泌物, 为储存精子作准备 (图 2; 2)。此时, 囊壁上皮的高柱状细胞变得更高, 核中位或靠近基部。皱缩腔和伸展腔的结缔组织层基本相同, 较厚而含有血窦, 结缔组织的细胞核多呈圆形或卵圆形。结缔组织在入口处较厚, 随着不断靠近囊腔中部, 厚度逐渐变薄 (图 2; 4~6)。

纳精囊腔中含有嗜曙红物质, 为上皮分泌的粘液 (图 2; 4)。纳精囊腔中的分泌物在卵黄发生早期阶段含量很低, 在卵黄发生中后期阶段含量增高。

2.3 细胞化学

在卵黄发生的不同阶段, 用细胞化学的方法可以检测到纳精囊上皮及囊腔中内含物的变化, 结果见表 1。

3 讨 论

S. yangtsekiense 的卵巢、输卵管及纳精囊的形态

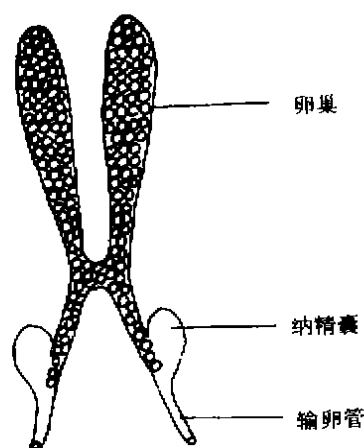


图 1 长江华溪蟹雌性生殖系统
Fig. 1 The female reproductive system of *S. yangtsekiense*



图 2 长江华溪蟹纳精囊与卵巢发育周期的关系

Fig. 2 Spermatheca of the freshwater crab *Sinopotamon yangtsekiense* (Butt) in relation to the ovarian cycle

1. 4月纳精囊(section passing through the spermatheca of *S. yangtsekiense* in April) $\times 128$;
 2. 7月纳精囊, 示囊壁的伸展(section passing through the spermatheca of *S. yangtsekiense* in July, note extending of spermathecal epithelium) $\times 128$;
 3. 8月纳精囊, 示入口处全貌(section passing through the spermatheca of *S. yangtsekiense* in August, note a view of the whole spermatheca) $\times 128$;
 4. 8月纳精囊, 示腔内嗜嗜红物质(section passing through the spermatheca of *S. yangtsekiense* in August, note eosinophilic materials in lumen) $\times 256$;
 5. 图4放大(magnification of Fig. 4) $\times 520$;
 6. 8月纳精囊, 示全分泌型腺细胞及腔内分泌物(section passing through the spermatheca of *S. yangtsekiense* in August, note holocrine gland cells of spermathecal epithelium and secretion in lumen) $\times 640$;
 7. 6月纳精囊, 示囊内精子(section passing through the spermatheca of *S. yangtsekiense* in June, note sperm in lumen) $\times 640$.
- BL. 基膜(basal lamina); CT. 结缔组织(connective tissue); E. 囊壁上皮(epithelium); TGC. 顶分泌型腺细胞(topocrine gland cells); L. 囊腔(lumen); M. 肌肉层(muscle); N. 细胞核(nucleus); Se. 分泌物(secretion); S. 精子(sperm).

结构与堵南山(1957)描述过的 *Eriocheir sinensis* 十分相近。*S. yangtsekiense* 纳精囊体积大小的周期性变化

与囊腔内储藏物的含量有关。囊腔内含物中有一部分是储存的精子, 一部分是纳精囊上皮细胞的顶分泌型

腺细胞的分泌物,且这些细胞的细胞质的嗜碱性和 RNA 的含量表明它们自身也有周期性变化。在卵黄形成的早期合成活动频繁,随后的时期合成活动较少。细胞化学观察表明,纳精囊腔中的粘液含有 PAS 阳性物质(可经乙酰化作用而破坏)、蛋白质和脂肪,此外,还含有微量糖、酸性粘多糖等。纳精囊腔中含有脂肪物质,表明当精子储藏于纳精囊中时,精子利用脂肪物质进行氧化代谢。腔中粘液与纳精囊上皮细胞化学反应的紧密联系,说明腔中粘液大部分是纳精囊上皮细胞自身分泌活动的结果。腔中粘液含有能促使精荚解体的特殊酶类。粘液为精子的储藏提供了合适的流体介质,为精子的存活提供了必要的营养。粘液作为一种润滑剂,使卵子沿输卵管向下运输能顺利进行。此外,实验结果还揭示,纳精囊上皮处肌肉层的

存在,使囊腔内含物在需要时靠肌肉的收缩而排出纳精囊。

囊壁上皮二种类型的细胞在不同发育阶段所占比例不同。卵巢发育早期,顶分泌型腺细胞的数量少,接近繁殖期时逐渐增多。作者认为,顶分泌型腺细胞增多是适应繁殖需要,由柱状上皮细胞经细胞分裂演变而来的。而且,纳精囊腔内分泌物是由顶分泌型腺细胞产生的,这点与薛鲁征(1987)在河蟹(*Eriocheir sinensis*)研究中得出的结论不同。至于纳精囊腔体积的增大,则是由于囊腔上皮细胞的分裂繁殖和内含物的增多而造成的。所以,纳精囊有周期性的细胞分裂现象。

纳精囊的主要作用是储藏精子,其结构的周期性变化与精子发生的关系如何,有待今后继续研究。

参 考 文 献

- 王 兰,堵南山,赖 伟,1997. 长江华溪蟹精子发生过程中线粒体的超微结构研究. 动物学报, 43(2): 113~118. [Wang L, Du N S, Lai W, 1997. Mitochondrial ultrastructure during spermatogenesis of *Sinopotamon yangtsekiense* (Crustacea: Decapoda). *Acta Zoologica Sinica*, 43(2): 113~118.]
- 王 兰,堵南山,赖 伟,1996. 长江华溪蟹输精管的超微结构与精荚形成的研究. 海洋与湖泊, 27(4): 373~379. [Wang L, Du N S, Lai W, 1996. Ultrastructure of vas deferens and formation of spermatophore of freshwater crab, *Sinopotamon yangtsekiense* (Crustacea: Decapoda). *Oecologia et Limnologia Sinica*, 27(4): 373~379.]
- 王 兰,1996. 溪蟹研究动态. 华东师范大学学报(自然科学版), 12: 111~115. [Wang L, 1996. Development of studying on the freshwater crab, *Sinopotamon yangtsekiense* (Crustacea: Decapoda). *Journal of East China Normal University (Natural Science)*, Special Issue of Zoology, 12: 111~115.]
- 王 兰,堵南山,赖 伟,1996. 长江华溪蟹精子发生的组织学研究. 见: 第二届全国水产青年学术研讨会论文集. 淡水渔业(增刊): 26~30. [Wang L, Du N S, Lai W, 1996. Histological study of spermatogenesis of freshwater crab *Sinopotamon yangtsekiense*. *Freshwater Fisheries*, 26~30.]
- 堵南山,1957. 毛蟹的解剖. 华东师范大学学报(自然科学版), 1: 60~73. [Du N S, 1957. Anatomy of *Eriocheir sinensis*. *Journal of East China Normal University (Natural Science)*, 1: 60~73.]
- 薛鲁征,堵南山,赖 伟,1987. 中华绒螯蟹雌性生殖系统的组织学研究. 华东师范大学学报(自然科学版), 3: 88~97. [Xue L Z, Du N S, Lai W, 1987. Histological study of female reproductive system of *Eriocheir sinensis*. *Journal of East China Normal University (Natural Science)*, 3: 88~97.]
- Farmer A S D, 1974. Reproductive in *Nephrops norvegicus* (Decapoda: Nephropidae). *J. Zool.*, 174: 161~183.
- Haefner P A, 1977. Reproductive biology of the female deep-sea red crab, *Geryon quinqueclens*, from the Chesapeake Bight. *Fish. Bull.*, 75: 91~102.
- Ryan E P, 1957. Structure and function of the reproductive system of the crab *Portunus sanguinolentus* (Herbst) (Brachyura: Portunidae). II. The female system. *Proc. Symp. Crustacea, Mar. Biol. Assoc. India, Madras*, Pt. 2: 522~544.
- Varadarajan S, 1980. Histological changes during vitellogenesis in the ovary of hermit crab *Clibanarius clibanarius*. *Proc. Indian natn. Sci. Acad.*, 5: 645~651.

STUDY ON SPERMATHECA OF THE FRESHWATER CRAB, *Sinopotamon yangtsekiense* (BUTT)

WANG Lan

(Shanxi University Taiyuan 030006)

Li Chun-yuan

(China Institute for Radiation Protection Taiyuan 030006)

Abstract A study on spermatheca of the freshwater crab, *Sinopotamon yangtsekiense* was performed with histologic

and cytochemical methods. Female crabs were collected from Ningguo County in Anhui Province on May 1994. The re-

sults showed that morphology of the spermatheca is associated with the ovarian cycle. During reproductive stage, a lot of mucus was secreted by the toparine gland cells of spermathecal epithelium in lumen, providing proper fluidy medium for

sperm storage, and nutrients for sperm survival. It was found that there was an obvious cytochemical changes in the epithelium and in the luminal contents of the spermatheca during different phases of the vitellogenesis cycle.

Key words *Sinopotamon yangtsekiense*, Spermatheca, Histology, Cytochemistry

会议消息

第三届全国生物多样性保护与持续利用研讨会在昆明召开

第三届全国生物多样性保护与持续利用研讨会于 1998 年 12 月 11 日至 13 日在云南省昆明市举行。此次会议由中国科学院生物多样性委员会、国家环境保护总局自然保护司和国家林业局野生动物和森林植物保护司共同主办,中国科学院昆明动物研究所承办。主题是面向 21 世纪的中国生物多样性保护。

中国是世界上较早签署《生物多样性公约》的国家之一,率先制订了《中国生物多样性保护行动计划》,并在近年取得了可喜的成绩。但是前景不容乐观,任务仍然艰巨。生物多样性保护与持续利用工作在很大程度上受到信息和技术的制约。到目前为止,我们国家仍然处于家底不清的状况,对于大多数保护物种的濒危机制所知甚少,距科学有效地进行生物多样性管理还有相当差距,迫切需要加强生物多样性的理论研究,为保护和持续利用决策提供充分的科学依据。

全国生物多样性研讨会是国内本领域水平最高的学术会议,本届研讨会是继 1994 年第一届研讨会和 1996 年第二届研讨会以来规模最大的一届研讨会。包括台湾、香港在内的全国 20 个省、区及美国密苏里植

物园的 133 位专家学者出席了研讨会。内容涉及生物多样性总论、遗传多样性、物种多样性、生态系统多样性和生物多样性信息管理等各个方面。其热点主要集中在 7 个方面:生物多样性的调查、编目及信息系统的建立;人类活动对生物多样性的影响;生物多样性的生态系统功能;生物多样性的长期动态监测;物种濒危机制及保护对策的研究;栽培植物与家养动物及其野生近缘种的遗传多样性研究;生物多样性保护技术与对策。

台湾学者和香港学者是第 1 次出席大陆举办的全国性生物多样性学术研讨会,他们所作的学术报告引起了与会代表的极大兴趣。

本次研讨会在世纪之交为广大专家学者提供了一次聚集一堂、共同总结和回顾过去、展望未来、勾画我国 21 世纪生物多样性研究和保护蓝图的机会,是一次承前启后、继往开来的重要会议,对把我国生物多样性保护和持续利用事业全面推向新世纪具有深远的意义。

《动物学研究》编辑部

(中国科学院昆明动物研究所 650223)